



(11) **EP 2 339 023 A3**

(12) **EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG**

(88) Veröffentlichungstag A3:  
**21.03.2012 Patentblatt 2012/12**

(51) Int Cl.:  
**C12Q 1/68 (2006.01)**

(43) Veröffentlichungstag A2:  
**29.06.2011 Patentblatt 2011/26**

(21) Anmeldenummer: **10190882.0**

(22) Anmeldetag: **11.11.2010**

(84) Benannte Vertragsstaaten:  
**AL AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB  
GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MK MT NL NO  
PL PT RO RS SE SI SK SM TR**  
Benannte Erstreckungsstaaten:  
**BA ME**

(30) Priorität: **13.11.2009 DE 102009054098**

(71) Anmelder: **Schöllhorn, Volkmar, Dr.  
72479 Strassberg (DE)**

(72) Erfinder:  
• **Schöllhorn, Volkmar  
72479 Strassberg (DE)**  
• **Haid, Volker  
72336 Balingen (DE)**

(74) Vertreter: **Patentanwälte  
Ruff, Wilhelm, Beier, Dauster & Partner  
Postfach 10 40 36  
70035 Stuttgart (DE)**

(54) **Nachweis von Mykobakterien und deren Resistenzgenen**

(57) Die Erfindung betrifft ein in vitro-Verfahren zum Nachweis von Tuberkulose-Erregern bzw. Mykobakterien bzw. deren DNA, umfassend die folgenden Schritte:

- Bereitstellen einer Probe, enthaltend Mykobakterien,
- Inkubieren der Probe mit einer Base,
- Isolieren von Mykobakterien-DNA aus den inkubierten Mykobakterien,
- Amplifizieren der isolierten Mykobakterien-DNA mittels Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR), wobei mehr als 30

Amplifikationszyklen durchgeführt werden,

- Nachweisen der amplifizierten Mykobakterien-DNA.

Die Erfindung betrifft weiterhin Oligonukleotid-Primer, Oligonukleotid-Sonden, einen Träger mit Oligonukleotid-Sonden sowie einen Kit zum Nachweis von DNA von Tuberkulose-Erregern bzw. Mykobakterien bzw. deren DNA.

**EP 2 339 023 A3**



## EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

 Nummer der Anmeldung  
EP 10 19 0882

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (IPC)
X	BERGMANN ET AL: "Clinical evaluation of the Roche AMPLICOR PCR Mycobacterium tuberculosis test for detection of M. tuberculosis in respiratory specimens.", JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Bd. 34, Nr. 5, 1. Mai 1996 (1996-05-01), Seiten 1083-1085, XP055009523, ISSN: 0095-1137	1-5,7,11	INV. C12Q1/68
Y	* Seite 1083 - Seite 1084, Absatz 1 *	6,8-10	
X	EP 1 098 003 A2 (MARINE BIOTECH INST CO LTD [JP]) 9. Mai 2001 (2001-05-09)	12-15	
Y	* Absätze [0040] - [0048]; Ansprüche *	6,8-10	
X	NIEMANN S ET AL: "Differentiation of clinical Mycobacterium tuberculosis complex isolates by gyrB DNA sequence polymorphism analysis", JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, WASHINGTON, DC, US, Bd. 38, Nr. 9, 1. September 2000 (2000-09-01), Seiten 3231-3234, XP002263235, ISSN: 0095-1137	12-15	
Y	* Zusammenfassung *	6,8-10	
X	WO 03/080871 A2 (HAIN LIFESCIENCE GMBH [DE]; WEIZENEGGER MICHAEL [DE]) 2. Oktober 2003 (2003-10-02) * Seiten 20-22; Ansprüche *	1-15	
	----- -/--		
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenort <b>Den Haag</b>		Abschlußdatum der Recherche <b>14. Oktober 2011</b>	Prüfer <b>Reuter, Uwe</b>
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nichtschriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur		T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentedokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument	

EPO FORM 1503 03.82 (P04C03)



## EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

 Nummer der Anmeldung  
EP 10 19 0882

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (IPC)
A	DARÍO GARCÍA DE VIEDMA ET AL: "New real-time PCR able to detect in a single tube multiple rifampin resistance mutations and high-level isoniazid resistance mutations in Mycobacterium tuberculosis", JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, WASHINGTON, DC, US, Bd. 40, Nr. 3, 1. März 2002 (2002-03-01), Seiten 988-995, XP002621308, ISSN: 0095-1137, DOI: 10.1128/JCM.40.3.988-995.2002 * Seiten 989-991; Tabelle 1 *	1-15	RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (IPC)
A	N. SIDDIQI ET AL: "Molecular Characterization of Multidrug-Resistant Isolates of Mycobacterium tuberculosis from Patients in North India", ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, Bd. 46, Nr. 2, 1. Februar 2002 (2002-02-01), Seiten 443-450, XP055009310, ISSN: 0066-4804, DOI: 10.1128/AAC.46.2.443-450.2002 * Abbildungen; Tabelle 1 *	1-15	
A	WO 2007/115344 A1 (ARC AUSTRIAN RES CTENTERS GMBH [AT]; SESSITSCH ANGELA [AT]; BODROSSY L) 18. Oktober 2007 (2007-10-18) * Ansprüche *	1-15	
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenort Den Haag		Abschlußdatum der Recherche 14. Oktober 2011	Prüfer Reuter, Uwe
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : mündliche Offenbarung P : Zwischenliteratur		T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument	

 1  
EPO FORM 1503 03.02 (P04C03)



Nummer der Anmeldung

EP 10 19 0882

**GEBÜHRENPFLICHTIGE PATENTANSPRÜCHE**

Die vorliegende europäische Patentanmeldung enthielt bei ihrer Einreichung Patentansprüche, für die eine Zahlung fällig war.

☐ Nur ein Teil der Anspruchsgebühren wurde innerhalb der vorgeschriebenen Frist entrichtet. Der vorliegende europäische Recherchenbericht wurde für jene Patentansprüche erstellt, für die keine Zahlung fällig war, sowie für die Patentansprüche, für die Anspruchsgebühren entrichtet wurden, nämlich Patentansprüche:

☐ Keine der Anspruchsgebühren wurde innerhalb der vorgeschriebenen Frist entrichtet. Der vorliegende europäische Recherchenbericht wurde für die Patentansprüche erstellt, für die keine Zahlung fällig war.

**MANGELNDE EINHEITLICHKEIT DER ERFINDUNG**

Nach Auffassung der Recherchenabteilung entspricht die vorliegende europäische Patentanmeldung nicht den Anforderungen an die Einheitlichkeit der Erfindung und enthält mehrere Erfindungen oder Gruppen von Erfindungen, nämlich:

Siehe Ergänzungsblatt B

☐ Alle weiteren Recherchegebühren wurden innerhalb der gesetzten Frist entrichtet. Der vorliegende europäische Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt.

☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Recherchenabteilung nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.

☐ Nur ein Teil der weiteren Recherchegebühren wurde innerhalb der gesetzten Frist entrichtet. Der vorliegende europäische Recherchenbericht wurde für die Teile der Anmeldung erstellt, die sich auf Erfindungen beziehen, für die Recherchegebühren entrichtet worden sind, nämlich Patentansprüche:

☒ Keine der weiteren Recherchegebühren wurde innerhalb der gesetzten Frist entrichtet. Der vorliegende europäische Recherchenbericht wurde für die Teile der Anmeldung erstellt, die sich auf die zuerst in den Patentansprüchen erwähnte Erfindung beziehen, nämlich Patentansprüche:

1-15 (teilweise)

☐ Der vorliegende ergänzende europäische Recherchenbericht wurde für die Teile der Anmeldung erstellt, die sich auf die zuerst in den Patentansprüchen erwähnte Erfindung beziehen (Regel 164 (1) EPU).



**MANGELNDE EINHEITLICHKEIT  
DER ERFINDUNG  
ERGÄNZUNGSBLATT B**

Nummer der Anmeldung

EP 10 19 0882

Nach Auffassung der Recherchenabteilung entspricht die vorliegende europäische Patentanmeldung nicht den Anforderungen an die Einheitlichkeit der Erfindung und enthält mehrere Erfindungen oder Gruppen von Erfindungen, nämlich:

1. Ansprüche: 1-15(teilweise)

Oligonukleotidprimer zum Amplifizieren, Sonden zum Nachweis von Mykobakterien DNA welche spezifisch für das gyrB Gen sind (SEQ ID No 1,2,11-13), Träger umfassend besagte Sonden, Kit umfassend besagte Oligonukleotide und Verfahren zum Nachweise von DNA welches diese Primer und/ oder Sonden verwendet.

---

2. Ansprüche: 1-15(teilweise)

Oligonukleotidprimer zum Amplifizieren, Sonden zum Nachweis von Mykobakterien DNA welche spezifisch für das katG Gen sind (SEQ ID No 3,4,17-19,77-82), Träger umfassend besagte Sonden, Kit umfassend besagte Oligonukleotide und Verfahren zum Nachweise von DNA welches diese Primer und/ oder Sonden verwendet.

---

3. Ansprüche: 1-15(teilweise)

Oligonukleotidprimer zum Amplifizieren, Sonden zum Nachweis von Mykobakterien DNA welche spezifisch für das inhA Gen sind (SEQ ID No 5,6,14-16,83-94), Träger umfassend besagte Sonden, Kit umfassend besagte Oligonukleotide und Verfahren zum Nachweise von DNA welches diese Primer und/ oder Sonden verwendet.

---

4. Ansprüche: 1-15(teilweise)

Oligonukleotidprimer zum Amplifizieren, Sonden zum Nachweis von Mykobakterien DNA welche spezifisch für das rpoB Gen sind (SEQ ID No 7,8,20-28,56-76), Träger umfassend besagte Sonden, Kit umfassend besagte Oligonukleotide und Verfahren zum Nachweise von DNA welches diese Primer und/ oder Sonden verwendet.

---

5. Ansprüche: 1-12, 15(alle teilweise)

Oligonukleotidprimer zum Amplifizieren des humanen GAPDH Gens (SEQ ID No 9-10), Kit umfassend besagte Oligonukleotide und Verfahren zum Nachweise von DNA welches diese Primer verwendet.

---

6. Ansprüche: 1-11, 13-15(alle teilweise)

Sonden zum Nachweis von Mykobakterien DNA welche spezifisch



**MANGELNDE EINHEITLICHKEIT  
DER ERFINDUNG  
ERGÄNZUNGSBLATT B**

Nummer der Anmeldung

EP 10 19 0882

Nach Auffassung der Recherchenabteilung entspricht die vorliegende europäische Patentanmeldung nicht den Anforderungen an die Einheitlichkeit der Erfindung und enthält mehrere Erfindungen oder Gruppen von Erfindungen, nämlich:

für die rrs Zielregion sind (SEQ ID No 29-31), Träger umfassend besagte Sonden, Kit umfassend besagte Sonden und Verfahren zum Nachweise von DNA welches diese Sonden verwendet.

---

7. Ansprüche: 1-11, 13-15(alle teilweise)

Sonden zum Nachweis von Mykobakterien DNA welche spezifisch für das rpsL Gen sind (SEQ ID No 32-40), Träger umfassend besagte Sonden, Kit umfassend besagte Sonden und Verfahren zum Nachweise von DNA welches diese Sonden verwendet.

---

8. Ansprüche: 1-11, 13-15(alle teilweise)

Sonden zum Nachweis von Mykobakterien DNA welche spezifisch für die Kan Zielregion sind (SEQ ID No 41-49), Träger umfassend besagte Sonden, Kit umfassend besagte Sonden und Verfahren zum Nachweise von DNA welches diese Sonden verwendet.

---

9. Ansprüche: 1-11, 13-15(alle teilweise)

Sonden zum Nachweis von Mykobakterien DNA welche spezifisch für das gyrA Gen sind (SEQ ID No 50-55), Träger umfassend besagte Sonden, Kit umfassend besagte Sonden und Verfahren zum Nachweise von DNA welches diese Sonden verwendet.

---

**ANHANG ZUM EUROPÄISCHEN RECHERCHENBERICHT  
ÜBER DIE EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG NR.**

EP 10 19 0882

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten europäischen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.  
Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am  
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

14-10-2011

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 1098003 A2	09-05-2001	EP 1098003 A2	09-05-2001
		JP 3565752 B2	15-09-2004
		JP 2001128679 A	15-05-2001
-----	-----	-----	-----
WO 03080871 A2	02-10-2003	AU 2003256082 A1	08-10-2003
		DE 10213537 A1	30-10-2003
		EP 1490518 A2	29-12-2004
		WO 03080871 A2	02-10-2003
-----	-----	-----	-----
WO 2007115344 A1	18-10-2007	AT 503401 A1	15-10-2007
		EP 2004851 A1	24-12-2008
		WO 2007115344 A1	18-10-2007
-----	-----	-----	-----

EPO FORM P0481

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82